1. 배양 조작법

영양물질(기질)의 공급방식에 따른 구분

- 회분배양(batch culture)
- 연속배양(continuous culture)
- 유가식배양(fed batch culture)

2. 연속배양
(continuous culture)

- 발효조에 신선한 배지를 연속해서 일정한 속도로 공급하면서 동량의 배양액을 연속적으로 배출시켜 발효조 내의 액량을 항상 일정하게 유지하도록 고안된 방법

- Steady state, open system:

  자기제어에 의한 평형유지

3. 연속배양의 특징

- 배양조건이 항상 일정하게 유지된다

  :배양의 정상상태를 만들 수가 있다.

- 인위적으로 증식속도를 임의로 조절할 수 있다

  : 균의 증식속도를 희석율로써 제어할 수 있다.

4. 연속배양의 종류

- Plug -flow culture
- Continuous -flow stirred tank culture

  (Chemostat, Turbidostat)

. 키모스탯

생육제한 영양원의 공급속도를 일정하게 함으로써 균체증식속도를 최대로 하여, 정상상태를 유지하는 방법.

. 터비도스탯

균체 농도를 연속적으로 측정하고, 균체 농도를 일정하게 조절함으로써 정상상태를 유지하는 방법.

. 플러그 흐름 배양기

관형반응조에 교반하지 않고 배지를 주입하기 때문에 발효조의 위치에 따라 영양원의 농도, 균체농도, 산소농도, 생산성 등이 다름.

5. 연속배양의 장단점

장점

- 적은 노동력.
- 높은 생산성.
- 제품의 균질성을 높임.
- 미생물의 대사 및 유지에 관한 연구에 도움.

단점

- 균주의 변이 발생 가능성.
- 오염에 대한 위험성.
- 낮은 생성물 농도로 인한 많은 분리회수 비용.

6. 키모스탯과 터비도스탯

6.1 키보스탯(chemost culture)

- 배지를 일정한 속도로 주입하고 동시에 같은 양만큼 빼내, 일정 growth 상태를 오랫동안 유지.
- Singlr -substrate -limited growth
- 환경조건 및 배양조건을 일정하게 유지.
- Cell yield는 growth limiting substrate에 의해서만 영향(μ, D에 무관).

6.2 터비도스탯(turbidostat culture)

- 균체농도를 지표로 해서 광전비탁계로 배양액의 탁도를 조절하여 배지공급 및 배출속도를 제어하면서 균체농도를 일정하게 유지.
- Biomass density는 고정되어 있고 dilution rate에 의해 quasi -steady state 도달.
- Photoelectric cell을 이용

7. 이용

사료용 및 빵효모용 효모균체의 생산이나 공업폐수 또는 생활하수의 생물학적 처리를 위한 연속배양.

맥주양조, SCP, 균의 분리, 회분배양이나 유가배양의 개선을 목적으로 한 배양공정의 기술연구.

지금까지의 연구는 실험실 규모가 대부분이며 공장규모의 예는 드물다.

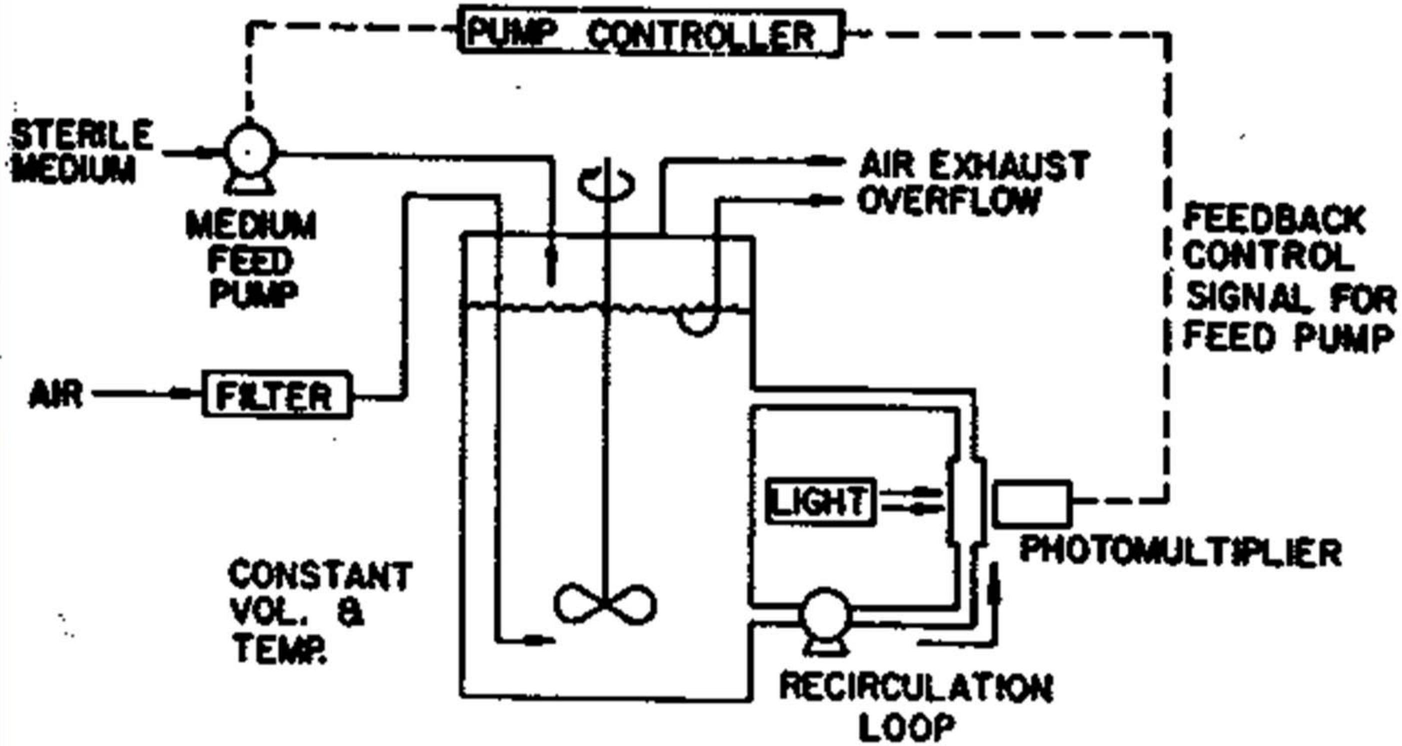

Figure 6.17. Typical laboratory setup for a turbidostat. (With permission, from D. I. C. Wang and others, *Fermentation and Enzyme Technology*, John Wiley & Sons, Inc., New York, 1979, p. 100.)

8. 이상적 키모스탯

연속 교반 탱크 반응기(CFSTR) 내에서 멸균된 배지가 완전한 혼합이 이루어지며 통기가 되고 있는 반응기에 공급이 되고 반응기의 액체 부피는 일정하게 유지.

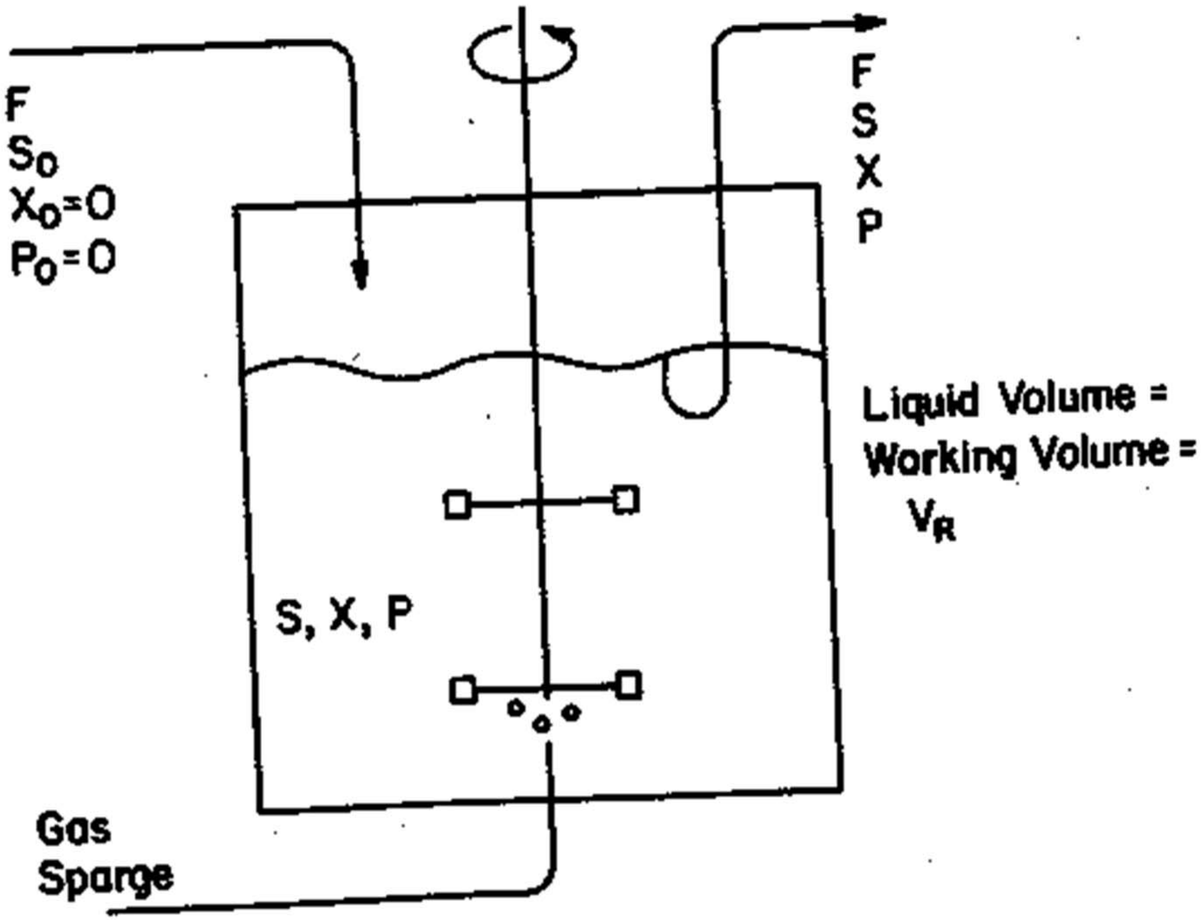

Figure 6.18. Simplified schematic of a chemostat.

세포에 대한 물질 수지

$$FX_0 - FX - V_R\mu X - V_R k_d X = V_R dx/dt$$

- F: 영양배지의 유량(l/h)
- V_R: 배양액 부피(l)
- X: 세포 농도(g/l)
- μ 비생장속도
- k_d: 내인성 대사 속도 상수

기질 수지식

$$dX/dt = DX_0 - (\mu - k_d - D)X$$

($D = F/V_R$ (hr^{-1}); 희석 속도이고
액의 평균체류시간의 역수)

- 원료 배지 무균상태 $X_0 = 0$ 이고
- 내인성 대사 및 사멸 속도가 생장속도에 비해 무시 ($\mu >> k_d$)
- system이 인 정상상태에서 $\mu = D$

=> 키모스탯에 있어서 세포는 생장속도와 같은 속도로 반응기로부터 제거되며 따라서 생장속도는 희석속도와 같다.

Single -substrate limited growth

$$\mu = D = \frac{\mu_m S}{K_s + S}$$

if $D < \mu_m$ 에서

$$S = \frac{K_s D_s}{\mu_m - D}$$

제한 기질에 대한 물질 수지

(내인성 대사가 없을 때)

$$FS_0 - FS - V_R \mu X \frac{1}{Y_{X/S}^M} - V_R q_p X \frac{1}{Y_{P/S}} = V_R \frac{dS}{dt}$$

- S_0 ,S: 각 원료와 유출액 중의 기질 농도(g/l)
- q_P: 세포의 산물 비생성 속도(g P/ g세포*h)
- $Y_{X/S}^M$: 수율계수

$$FS_0 - FS - V_R \mu X \frac{1}{Y_{X/S}^M} - V_R q_p X \frac{1}{Y_{P/S}} = V_R \frac{dS}{dt}$$

세포의 산물 생성이 무시할만하며,

시스템이 정상상태에 있을 때 정상상태에서 이므로

$$\frac{F}{V_R}(S_0 - S) = \frac{\mu X}{Y_{X/S}^M} \qquad D(S_0 - S) = \frac{X}{Y_{X/S}^M}$$

정상상태에서 $\mu = D$이므로

$$X = Y_{X/S}^M (S_0 - S)$$

제한기질의 물질 수지
(내인성 대사가 있을 때)

$$d(S_0 - S) = \frac{X}{Y^M_{X/S}}$$ 에서

$$\mu = D + k_d$$ 대입

$$D(S_0 - S) - \frac{1}{Y^M_{X/S}}(D + k_d)X = 0$$

$$D\left(\frac{1}{Y^{AP}_{X/S}}\right) - \frac{P}{Y^M_{X/S}} - \frac{k_d}{Y^M_{X/S}} = 0$$

$$\frac{1}{Y^{AP}_{X/S}} = \frac{1}{Y^M_{X/S}} + \frac{k_d}{Y^M_{X/S} D}$$

$$\frac{1}{Y^{AP}_{X/S}} = \frac{1}{Y^M_{X/S}} + \frac{m_s}{D}\left(m_S = \frac{k_d}{Y^M_{X/S}}\right)$$

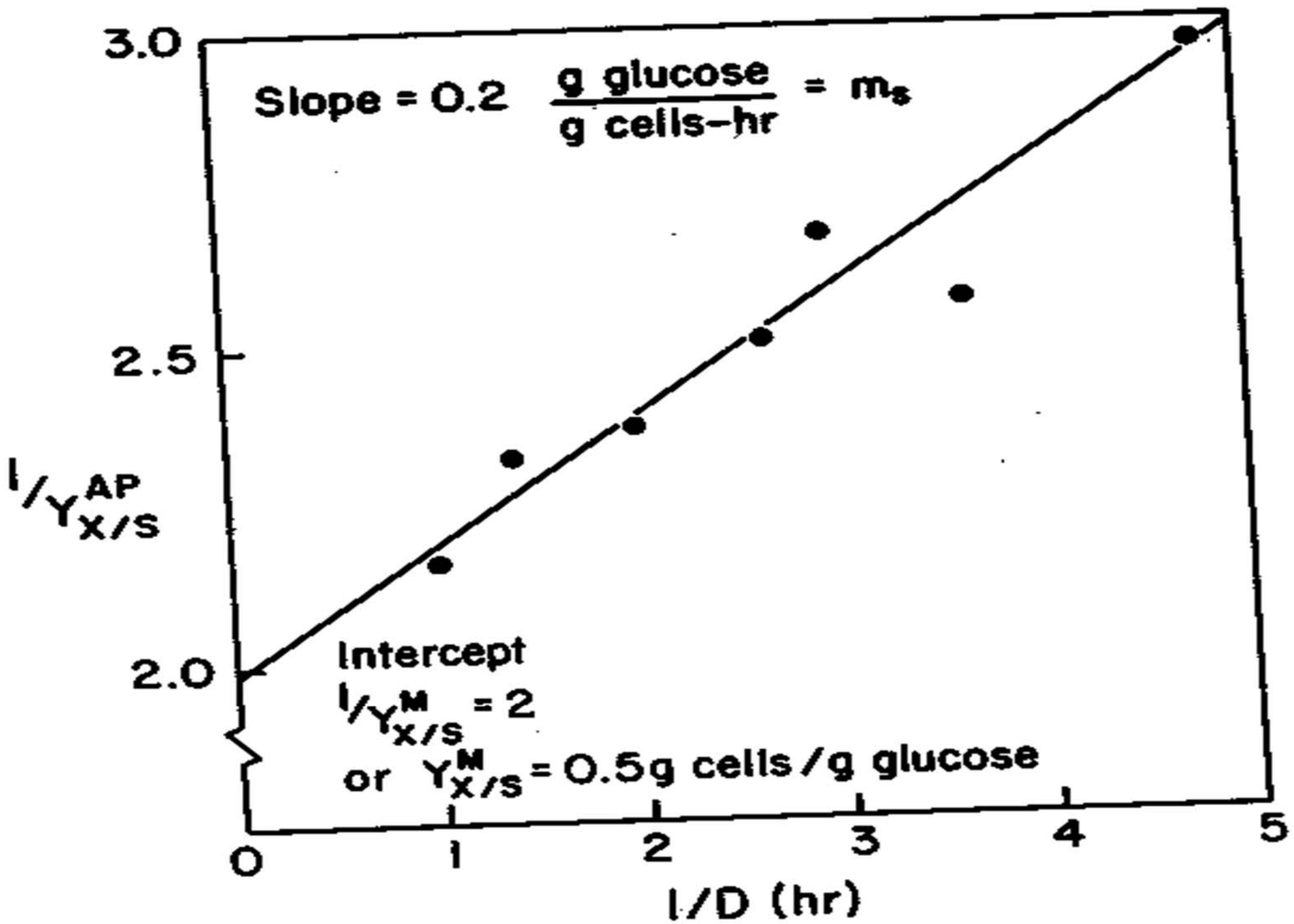

Figure 6.19. Graphical approach to estimating $Y^{M}_{X/S}$ and m_s for chemostat data for *E. coli* growing on glucose as the limiting nutrient.

내인성 대사가 있으면

$$\mu = \frac{\mu_M S}{(k_s + S)}$$

$$s = \frac{K_s(D + k_d)}{\mu_m - D - k_d}$$

$$X = Y_{X/S}^{M}[S_0 - S]\frac{D}{D + k_d}$$

■ 세포밖의 기질이 세포 외부산물로 전환되는 경우

산물생성 수지

$$DP = q_P X$$

$$S = \frac{K_s(D + k_d)}{\mu_m - D - k_d}$$

$$X = Y_{X/S}^{M}[S_0 - S]\left(\frac{D}{D + k_d + q_P \frac{Y_{X/S}^{M}}{Y_{P/S}}}\right)$$

6.4.4 도구로서의 키모스탯

- 키모스탯의 사용
  - 돌연변이를 통한 균주선택 예
  - 환경변화가 세포의 생리에 미치는 영향

6.4.5 이상상태와의 차이

- 키모스텟의 비이상상태

-공정에서 발효액의 점도가 높으면 완전한 혼합이 어려움

-발효조내의 고체 표면상에 고체가

얇은 막 형태로 자라려는 경향